

小麦植株挥发性次生物质对棉铃虫的行为及 EAG 反应*

张钟宁 李秀珍 方宇凌 向余劲攻 耿文军

(中国科学院动物研究所 北京 100080)

摘要 本文用无水乙醚及水蒸汽蒸馏两种方法, 分别提取小麦花和叶各 1 000 g 和 3 200 g。4 个提取样品分别用氮气浓缩至 2 mL。然后用风洞和触角电位检测棉铃虫 *Helicoverpa armigera* 对小麦花、叶提取物的行为及电生理的反应。风洞实验结果表明: 小麦花、叶中所含的挥发性次生物质对棉铃虫有很好的引诱作用, 其定向率为 45%~72%, 高于对照 22.2%, 经 *t* 检验差异显著; 此外, 雌蛾对花、叶的定向率均高于雄蛾; 而花与叶的提取物对雌、雄蛾的定向率之间无显著差异。触角电位实验结果表明: 棉铃虫触角对小麦花、叶的提取物均有强的 EAG 反应, 与对照相比有显著性差异; 雌虫的 EAG 反应略高于雄虫, 但差异不显著; 小麦花提取物对棉铃虫 EAG 反应略强于小麦叶, 但差异不显著。

关键词 小麦, 挥发性次生物质, 棉铃虫, 行为, EAG

棉铃虫 *Helicoverpa armigera* (Hübner) 是我国主要的农业害虫, 它对大田粮食作物、经济作物、蔬菜等 200 多种植物造成受害。90 年代初期, 棉铃虫在我国多年大发生, 特别是在棉田, 造成棉花大面积减产, 有的地方甚至绝收。棉铃虫越冬代主要寄主是小麦, 尽管它对小麦的受害一般很小, 当小麦收获后, 棉铃虫即迁移出麦田, 分流的主要寄主之一是棉花^[1]。因此, 在麦田控制棉铃虫越冬代的盛势, 不仅对棉花生产, 而且对玉米、花生、蔬菜等的生产都极有好处。

我们分别用溶剂提取和水蒸汽蒸馏的方法^[2~4]对小麦的叶和花中的易挥发性次生物质进行了提取。经风洞实验证明提取物对棉铃虫的雌蛾和雄蛾均有很强的引诱作用; 而且来自小麦花和叶的提取物, 对棉铃虫雌、雄蛾的触角均能引起强的反应。我们还对提取物进行了初步的气-质联用分析。

1 材料和方法

1.1 材料

(1) 小麦: 本实验所采用的小麦均采自北京郊区 (白露种)。(2) 试剂: 正己烷 (A.R); 无水乙醚 (A.R); 以上两种溶剂均进行重蒸。(3) 试虫: 棉铃虫均为人工饲料多代室内饲养。

* 国家攀登计划资助项目

1997-01-14 收稿, 1997-04-07 收修改稿

1.2 仪器设备

(1) GC-MS: 气谱为 HP5890A, 气谱柱为 BP20 毛细管柱, 长 25 m; 内径 0.25 mm; 质谱为 Finnigan 700 型, 离子阱检测器。(2) 短程蒸馏装置 (图 1); (3) 气相回流装置

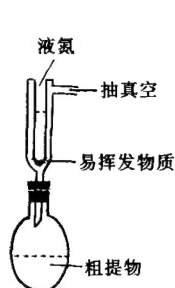


图 1 短程蒸馏装置

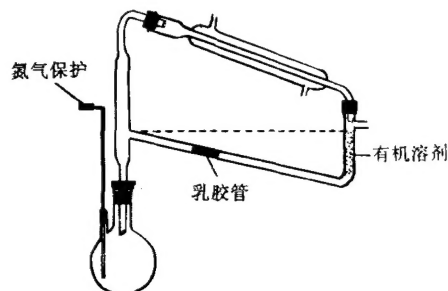


图 2 气相回流装置

(图 2)。(4) 风洞: 风速为 40 cm/s; 被试棉铃虫蛾距气味源 115 cm 下风处释放。(5) EAG: 电极: 直径 0.2 mm 的银-氯化银电极插入到内径 2 mm 的玻璃毛细管中, 电极内径注入适量的 Kaissling 溶液。直流/交流放大器: Syntech UN-06。示波器: Hameg HM 203-6。记录仪: Gould Recorder 220。刺激控制仪: Syntech CS-05。连续气流流量: 5 mL/s。刺激时间: 0.5 s

1.3 方法

1.3.1 小麦叶和花中挥发性物质的提取: 短程蒸馏法: 取新鲜的小麦叶或小麦花, 浸入液氮中, 冷却研磨。然后用无水乙醚浸泡 1 周, 过滤。用分液漏斗分去水相; 有机相经无水硫酸镁干燥后用旋转蒸发器蒸去绝大部分乙醚。粗提物用短程蒸馏装置提取挥发性物质 6 h。提取物用正己烷冲洗收集, 然后将提取液用氮气浓缩至 2 mL。所用小麦花和小麦叶的总重量分别为 1 000 g 和 3 200 g。

气相回流提取法: 取新鲜小麦叶或小麦花, 装入 3 L 的圆底大烧瓶中, 加入 2 L 水后在氮气保护下加热, 使之沸腾 3 h, 挥发性物质随水蒸汽进入有机相 (己烷) 富集。有机相循环使用几次后用滴管吸出, 用无水硫酸镁干燥后, 用氮气浓缩至 2 mL。所用小麦花和小麦叶的总重量分别为 1 000 g 和 3 200 g。

1.3.2 风洞: 将小麦叶或小麦花的提取物的己烷溶液 50 μ L 滴在滤纸片上, 悬挂于风洞进风口的中心位置, 开启风机送入新鲜空气; 随即在风洞的下风口逐一释放饥饿 4~8 h 的雌蛾或者雄蛾, 观察并记录雄蛾和雌蛾对小麦叶和花提取物是否定向飞行。对照为在滤纸片上滴加等量己烷。

1.3.3 EAG 的测定: 将小麦叶或小麦花提取物的己烷溶液 50 μ L 滴在滤纸片上, 置于触角电位仪的试样导入口, 随即将提取物吹向新置放的触角, 记录雄蛾和雌蛾对小麦叶和花的提取物的电生理反应。

2 结果和讨论

2.1 小麦叶和花的挥发性物质对棉铃虫蛾的引诱作用

本实验是利用风洞来进行小麦叶和花的挥发性次生物质分别对棉铃虫的雄蛾和雌蛾的引诱作用。利用上述实验方法，将棉铃虫雌蛾及雄蛾从风洞下风口处，逐一释放入风洞系统中，观察其在 1 min 内是否能到达诱源处。结果见表 1。

表 1 小麦花、叶提取物对棉铃虫蛾引诱作用的风洞定向实验*

		花		叶		对照	
		雌	雄	雌	雄	雌	雄
释放蛾头数		18	20	18	20	18	18
定向蛾头数		13	9	13	10	4	4
定向率(%)		72.2	45.0	72.2	50.0	22.2	22.2
<i>t</i> 检验：	花 雌	—	1.831 (0.1)	0	1.247 (<i>n</i>)	2.920 (0.02)	2.920 (0.02)
	雄	1.831 (0.1)	—	−2.765 (0.02)	−0.429 (<i>n</i>)	2.314 (0.05)	2.314 0.05
	叶 雌	0	−2.765 (0.02)	—	1.600 (<i>n</i>)	4.025 (0.001)	4.025 (0.001)
	雄	−2.765 (0.02)	—	1.600 (<i>n</i>)	—	1.999 (0.1)	1.999 (0.1)

*表中 () 内的数据为差异显著水平。表 2 同此

从表 1 中可看出，与对照相比较，小麦花与叶的提取物对棉铃虫雄蛾和雌蛾在风洞中均有很好的定向、引诱作用。小麦花、叶对棉铃虫雌、雄蛾定向率在 45%~72.2%，高于对照的一倍至二倍以上。经 *t* 检验，棉铃虫雌、雄蛾对小麦花和叶的提取物的定向率与空白对照都有显著的差异。其中雄蛾对小麦叶定向 *t* 检验值为 1.999，在 0.1 水平上显著；雄蛾对小麦花定向 *t* 检验值为 2.314，在 0.05 水平上显著。雌蛾对小麦花及小麦叶的定向率较高，其 *t* 检验值分别为 2.920 及 4.025，分别在 0.02 和 0.001 水平上显著。

雌蛾对小麦花、叶提取物的定向率均高于雄蛾；其中雌蛾趋花较之雄蛾趋花有明显差异，*t* 值为 1.831，在 0.1 水平上显著。雌蛾对小麦叶的定向率虽然高于雄蛾 22.2%；但 *t* 检验表明，两者之间的差异不显著。此外，雌蛾的趋花性与趋叶性相同，雄蛾的趋花性与趋叶性之间也无显著差异。

2.2 棉铃虫蛾对小麦花、叶提取物的 EAG 反应

按照材料与方法中所述，分别用棉铃虫雌蛾及雄蛾来检测小麦花和叶提取物对其刺激的 EAG 反应大小。其中，对照选择雌蛾，共选择 6 个触角，每个触角重复 3 次，结果见表 2。

表 2 棉铃虫雌、雄蛾触角对小麦花、叶提取物的 EAG 反应

		花		叶		对 照
		雌	雄	雌	雄	雌
EAG 均值		202	263	170	227	100
<i>t</i> 检验:	花 雌	—	—1.600	0.762	—	2.641
			(<i>n</i>)	(<i>n</i>)		(0.05)
	雄	—1.600	—	2.640	1.403	7.102
		(<i>n</i>)		(0.05)	(<i>n</i>)	(0.001)
	叶 雌	0.762	—	—	—1.611	1.996
		(<i>n</i>)		(<i>n</i>)	(<i>n</i>)	(0.1)
	雄	—	1.403	—1.611	—	5.747
			(<i>n</i>)	(<i>n</i>)		(0.001)

结果表明,与对照相比,棉铃虫雌蛾和雄蛾的触角对小麦花、叶易挥发性次生物质有较强的 EAG 反应,相对值高于对照 1 倍左右。经 *t* 检验,雌蛾触角对小麦花、叶的 EAG 反应与对照相比,有显著差异。其中,对花的 *t* 值为 2.641,在 0.05 水平显著;对叶的 *t* 值为 1.996,在 0.1 水平上显著。雄蛾触角对小麦花、叶的 EAG 反应与对照相比,也有显著差异。其中对花的 *t* 值为 7.102,在 0.001 的水平上显著;对叶的 *t* 值为 5.747,在 0.001 的水平上显著。

触角电位的实验表明,雌蛾和雄蛾相比较,它们的触角对小麦花、叶的 EAG 反应之间,无显著性差异。对小麦花的易挥发性次生物质,雌蛾与雄蛾触角电位的 *t* 检验值为 1.600,差异不显著;对小麦叶的易挥发性物质,雌蛾与雄蛾的触角电位之间的 *t* 检验值为 1.611,差异亦不明显。

棉铃虫的雌蛾对小麦花、叶挥发性次生物质的定向率均高于雄蛾;而触角电位的结果则相反,雄蛾的反应强于雌蛾。这种差异表明,在小麦花、叶中可能既存在有引诱棉铃虫蛾的挥发性次生物质,又存在有驱拒棉铃虫蛾的挥发性次生物质。而且,有可能棉铃虫雌蛾对小麦花、叶的引诱物质敏感性高于雄蛾,而雄蛾对小麦花、叶的驱拒物质的敏感性高于雌蛾。小麦花、叶中引诱和驱拒物质的存在,以及棉铃虫雌、雄蛾对其敏感性的差异,可能是造成定向结果和电生理结果差异的原因。此外,雌、雄蛾两者的阈值刺激剂量可能是不同的。以上的有关研究还将继续。

小麦是棉铃虫的主要寄主作物之一,特别是在我国北方越冬代蛾几乎全部在小麦上产卵、孵化。当小麦收获后,第二代蛾则分流外迁,其中棉田占相当大的比例。因此,在麦田控制好第一代蛾,则可能减少第二代的虫口基数,这将会减轻对棉田的压力。

根据本文的结果,小麦的挥发性次生物质对棉铃虫有很好的引诱作用。我们将通过田间的生物试验进一步证明其效果。并通过分离、分析鉴定其活性成分,进而合成之。通过试验,我们将探索利用小麦花和叶的挥发性次生物质来控制棉铃虫蛾行为作为防治手段的可能性和方法。

参 考 文 献

- 1 石庆宁, 刘文旭, 邵泽芸等. 华北棉区棉铃虫在不同寄主作物上的数量分布. 动物学集刊, 1995, 12(增刊): 36~39
- 2 Kemp T R, Stolty L P, Smith W T *et al.* The composition of the essential oil of leaves of strawberry cultivar (citation). American Society for Horticultural Science, 1969, 93: 334~339
- 3 Andersen R A, Hamilton-Kemp T R *et al.* Volatile compounds from vegetative tobacco and wheat obtained by steam distillation and headspace trapping. Biogenesis of Aromas, 1986, 99~111
- 4 Hamilton-Kemp T R, Andersen R A. Volatile compounds from wheat plants: Isolation, Identification, and Origin. Biogenesis of Aromas, 1986, 193~200

EFFECT OF VOLATILES OF WHEAT SECONDARY METABOLITES ON THE BEHAVIOUR AND ELECTROANTENNOGRAM OF *HELICOVERPA ARMIGERA* (HÜBNER)

Zhang Zhongning Li Xiuzhen Fang Yuling Xiangyu Jingong Geng Wenjun

(Institute of Zoology, Academia Sinica Beijing 100080)

Abstract In this paper, the extracts of wheat flowers and wheat leaves (1 000 g and 3 200 g respectively) were drawn forth both by ethyl ether and steam distillation. The four samples were concentrated to two milliliters each by nitrogen. Activity of the extracts attracting cotton bollworm moths was tested by wind-tunnel and electroantennographic responses. In wind tunnel, the result showed that: (1) the volatile secondary metabolites from wheat flowers and wheat leaves possess attractive effect on cotton bollworm moths. The orientation rate were 45% to 72%, much higher than 22.2% of control, with significant difference by *t* test; (2) the orientation rates of females were higher than those of males; and (3) there were no significant difference between flowers and leaves.

On EAG test, the result showed that antenna of cotton bollworm strongly responded to the extracts of wheat flowers and leaves with significant difference to the control. EAG response of male was slightly higher than that of female, and the EAG response of cotton bollworm to wheat flower extract was slightly higher than to leave extract.

Key words wheat, volatile secondary metabolites, *Helicoverpa armigera* (Hübner), behaviour, electroantennogram